

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-273866

(P2001-273866A)

(43) 公開日 平成13年10月5日 (2001.10.5)

|                           |       |               |            |
|---------------------------|-------|---------------|------------|
| (51) Int.Cl. <sup>7</sup> | 識別記号  | F I           | テーマコード(参考) |
| H 0 1 J 37/29             |       | H 0 1 J 37/29 | 2 H 0 4 9  |
| G 0 2 B 5/30              |       | G 0 2 B 5/30  |            |
| H 0 1 J 37/22             | 5 0 1 | H 0 1 J 37/22 | 5 0 1 A    |

審査請求 未請求 請求項の数11 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2000-85493(P2000-85493)

(22) 出願日 平成12年3月27日 (2000.3.27)

(71) 出願人 000004271

日本電子株式会社

東京都昭島市武蔵野3丁目1番2号

(72) 発明者 永山 國昭

愛知県岡崎市竜美南2-5-1-13

(72) 発明者 ダネフ ラドスチン

愛知県岡崎市竜美旭町1-25-2A

(74) 代理人 100088041

弁理士 阿部 龍吉 (外7名)

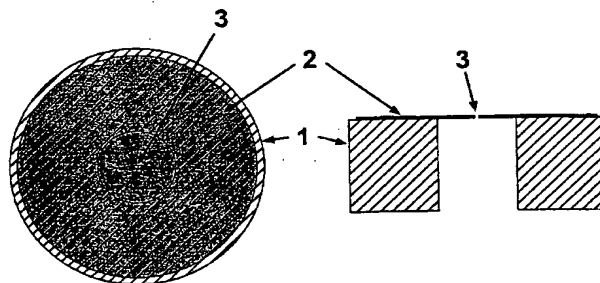
Fターム(参考) 2H049 BA06 BC23

(54) 【発明の名称】 位相差電子顕微鏡用薄膜位相板並びに位相差電子顕微鏡及び位相板帯電防止法

## (57) 【要約】

【課題】 薄膜位相板において帯電を制御し、また帯電してもその影響を最小化して電子顕微鏡像のコントラストを高めかつ像の歪を取り除く。

【解決手段】 入射及び散乱電子波の位相を一様にずらすための電子顕微鏡対物絞り1に担持された位相差電子顕微鏡用薄膜位相板として、非晶質炭素、非晶質金を含む伝導性の非晶質物質又は該伝導性の非晶物質の複合体の薄膜2よりなり、対物絞り1の開口中心に直径が0.05  $\mu$ mから5  $\mu$ mの大きさで真円の微小な丸い電子線透過孔3を有し、あるいは対物絞りの開口中心に電子波の位相を $\pi$ 遅らせる直径が0.05  $\mu$ mから5  $\mu$ mの大きさで真円の非晶物質を堆積する。薄膜位相板は、レンズ後焦点面またはその後方にくるように配置され、帯電を防止するために顕微鏡使用前に電子線を大量に照射する。



正面図

側面図

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 入射及び散乱電子波の位相を一様にするための電子顕微鏡対物鏡に担持された位相差電子顕微鏡用薄膜位相板であって、非晶質炭素、非晶質金を含む伝導性の非晶質物質又は該伝導性の非晶物質の複合体の薄膜よりなることを特徴とする位相差電子顕微鏡用薄膜位相板。

【請求項 2】 前記薄膜の厚さを制御して電子波の位相を  $\pi/2$  遅らせるようにした請求項 1 記載の位相差電子顕微鏡用薄膜位相板。

【請求項 3】 前記対物鏡の開口中心に微小な丸い電子線透過孔を有する請求項 2 記載の位相差電子顕微鏡用薄膜位相板。

【請求項 4】 前記電子線透過孔は、直径が  $0.05 \mu\text{m}$  から  $5 \mu\text{m}$  の大きさの真円であることを特徴とする請求項 3 記載の位相差電子顕微鏡用薄膜位相板。

【請求項 5】 対物鏡の開口中心に電子波の位相を  $\pi$  遅らせる真円の非晶物質を堆積した請求項 2 記載の位相差電子顕微鏡用薄膜位相板。

【請求項 6】 前記堆積した真円の非晶物質は、直径が  $0.05 \mu\text{m}$  から  $5 \mu\text{m}$  の大きさであることを特徴とする請求項 5 記載の位相差電子顕微鏡用薄膜位相板。

【請求項 7】 入射及び散乱電子波の位相を  $\pi/2$  遅らせるようにする非晶質炭素、非晶質金を含む伝導性の非晶質物質又は該伝導性の非晶物質の複合体よりなる薄膜位相板を電子顕微鏡対物鏡に担持したことを特徴とする位相差電子顕微鏡。

【請求項 8】 前記薄膜位相板は、前記対物鏡の開口中心に直径が  $0.05 \mu\text{m}$  から  $5 \mu\text{m}$  の大きさで真円の電子線透過孔を有し、レンズ後焦点面またはその後方にくるように配置されることを特徴とする請求項 7 記載の位相差電子顕微鏡。

【請求項 9】 前記薄膜位相板は、前記対物鏡の開口中心にその直径が  $0.05 \mu\text{m}$  から  $5 \mu\text{m}$  であり位相を  $\pi$  遅らせる非晶物質を堆積し、レンズ後焦点面またはその後方にくるように配置されることを特徴とする請求項 7 記載の位相差電子顕微鏡。

【請求項 10】 入射及び散乱電子波の位相を一様にするための非晶質炭素、非晶質金を含む伝導性の非晶質物質又は該伝導性の非晶物質の複合体よりなる薄膜位相板を電子顕微鏡対物鏡に担持した位相差電子顕微鏡の位相板帯電防止法であって、顕微鏡使用前に電子線を大量に照射することを特徴とする位相板帯電防止法。

【請求項 11】 前記対物鏡を高温に保持することを特徴とする請求項 1 記載の位相板帯電防止法。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 この発明は電子顕微鏡に関するものである。更に詳しくはこの発明は通常の電子顕微鏡において観測対象物質の電子波透過の際の位相変化を

積極的に画像化する位相差電子顕微鏡において必須の位相板に関するものであり、その作製法、性能テスト法、性能発揮のための操作使用方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術及び発明が解決しようとする課題】 電子線に対しほとんどの物質は透明で、物質による吸収は小さい。電子線は、物により散乱され、電子波として波の位相を変化させる。位相の変化は一般的には位相の後れ（マイナス）となって表れる。

【0003】 ところで透明な物質というのは、入射波に対し吸収や反射がないので写真や顕微鏡の像としては何も映らない。しかしシュリーレンカメラや位相差顕微鏡として光の世界では 70 年近く前から透明な物質の位相の変化を画像化する方法が考察されている。それらはいずれも物質による入射波の位相変化を入射波の強度の変化に変換し画像化することを行っている。また近年ではホログラフィーのように位相情報を回折パターンに変換する方法も利用されている。いずれも位相変化した散乱波と位相固定した参照波の干渉を用いて位相情報を強度情報に変換する方法がとられている。

【0004】 電子線を用いた顕微鏡の場合も観察対象がほとんど透明なため、昔から位相の差を強度変化に変換する方法が工夫されてきた。現在でも 50 年前にシェルツァー (Scherzer) により提案されたデフォーカスの導入による明視野顕微鏡法が一般的に採用されている (O. Scherzer, Journal of Applied Physics 20 (1949) 20-29)。これは透明体をレンズを用いて結像する際、意識的にピンボケ (デフォーカス) にすると強度の像として見えてくるという良く知られた現象を利用したものである。詳しくは入射波と透明体による散乱波の干渉がデフォーカス量に正弦的 (sin 関数的) に依存する関数で変調されるという特性を用いている。

【0005】 こうした入射-散乱干渉を用いた画像化の特性は、レンズ結像系の伝達関数により表現することができる。先に述べたような正弦波的依存性を持つ伝達関数は位相コントラスト伝達関数  $\sin(\gamma(k))$  と呼ばれ、それが像を変調する (詳しくは像のフーリエ変換に対し掛け算される) のである。〔数 1〕 にその具体的表式を示した。

【0006】

【数 1】

位相コントラスト伝達関数 (位相 CTF) :

$$\sin(\gamma(k)), \gamma(k) = ak^2 + bk^4$$

$\uparrow \quad \uparrow$   
 デフォーカス    球面収差

【0007】 ここで  $k$  は波数ベクトルで、空間周波数に対応する。また  $\gamma(k)$  はレンズを用いたことによる付

加的な散乱波の位相シフトの効果である。a、bが0のとき、すなわち結像系に収差がなくかつ像のピントがあっているとき（ジャストフォーカス、 $\gamma(k)=0$ ） $\sin \gamma(k)=0$ となり、像の強度は0すなわち透明体は見えないということになる。しかしa、bが0でなくかつ $k \neq 0$ なら、 $\sin \gamma(k) \neq 0$ となり像の強度は復活する。これが現在用いられている電子顕微鏡のコントラスト生成メカニズムである。

【0008】図6は電子レンズ系のコントラスト伝達関数（CTF）を示す図であり、電子レンズによる位相シフト $\gamma(k)$ の計算には加速電圧=300kV、球面収差係数=3mm、デフォーカス=0を用いた。図6①は通常のコントラスト伝達関数、図6②は中心孔を持つ $\pi/2$ 位相板を挿入したときのコントラスト伝達関数である。図7はコントラスト伝達関数（CTF）の位相板挿入に伴う帯電効果の影響を説明するための図であり、

（a）は正常CTF（位相板を入れないとき）、（b）は異常CTF（帯電しやすい非晶質薄膜位相板をいれたとき）を示す。

【0009】ところで位相コントラスト伝達関数（位相CTF）、 $\sin(\gamma(k))$ は正弦波的なため図6①で示すように $k=0$ のときの値が0となる。すなわち空間周波数が低い部分の画像情報（これは対象物の大まかな形を確定する情報だが）が像から欠落することを意味する。また像の空間周波数成分に $\sin(\gamma(k))$ という変調がかかること自体、正しい像を再現する立場からは大きな問題であった。それについて説明しよう。

【0010】図6の①の位相CTFが具体的に何を意味するかを示すため、一様な厚みを持った炭素非晶膜の電子顕微鏡のフーリエ変換像を図7（a）に示した。非晶膜は構造を持たないので乱雑な像が撮れ、そのフーリエ変換は中心対象なベル型強度像となるはずだが、図7（a）には同心円上の縞模様が見える。この縞模様（動径方向の強度変化）が図6①の位相CTFに対応している。 $\sin$ 関数の特徴として中心付近（ $k=0$ ）で0から始まり、黒白が交互に繰り返される。こうした変調がフーリエ変換像にかかるということは、異なる空間周波数成分が異なった重みで画像化されることを意味し、像を大きく歪ませる。特に形の情報が失われる。

【0011】ところでもし $\gamma(k)$ に対する依存性が正弦関数、 $\sin(\gamma(k))$ から余弦関数 $\cos(\gamma(k))$ に変わったらどうか。図6の②で示すこの関数は〔数2〕のような形をしている。

【0012】

〔数2〕

強度コントラスト伝達関数（強度CTF）

$$\cos(\gamma(k)), \gamma(k) = \underset{\substack{\uparrow \\ \text{デフォーカス}}}{ak^2} + \underset{\substack{\uparrow \\ \text{球面収差}}}{bk^4}$$

【0013】図6②からわかるようにこのコントラスト伝達関数は $\cos(\gamma(0))=1$ から始まり、しばらく1を持続するという好ましい性質を持っている。もし顕微鏡像がこのCTFで変調されるなら像の歪は小さいだろう。特に形を定める低周波成分が正しく再現されるというすぐれた性質を保持する。

【0014】位相差顕微鏡は上記のようにレンズによる像の正弦変調（ $\sin(\gamma(k))$ ）を余弦変調（ $\cos(\gamma(k))$ ）に変え、位相変化のみしかない物体であっても、像強度を0にせず、むしろ無歪で像を再現させるすぐれた方法である。従って40年以上前から電子顕微鏡においても位相差電子顕微鏡が追求されてきた

（1. K. Kanaya, H. Kawakatsu, "Experiment on the Electron Phase Microscope", Journal of Applied Physics, 29, (1958) pp.1046-1051. 2. J. Faget, M. Faget, J. Ferre, C. Fert, "Microscopie électronique a contraste de phase", in Fifth International Congress for Electron Microscopy, Academic Press, New York, 1(1962)A-7. 3. C. Hall, Introduction to Electron Microscopy, McGraw-Hill, New York, (1966)265-267. 4. T. Thon, in Electron microscopy in material science, Academic Press, New York, (1971)603-613. 5. D. Parsons, H. Johnson, "Possibility of a Phase Contrast Electron Microscope", Applied Optics, 11(1972)2840-2843. 6. D. Willasch, "HighResolution Electron Microscopy with Profiled Phase Plates", Optik, 44(1975)17-36.）。いずれも通常の電子顕微鏡法（明視野法）に比べ位相コントラスト法（位相差法）が高いコントラストをしめすことが実証的に示されている。では何故これほどすぐれた原理（この原理自体の発明はZernikeの位相差光学顕微鏡（1935）から始まる）が電子顕微鏡において実用に供されなかったのか。その最大の理由はレンズ系の結像を乱さずに位相差法を導入できなかったからである。以下その点に絞って説明する。

【0015】位相差顕微鏡の心臓部は対物レンズ後方の後焦点面近傍に置かれる位相板である。この位相板の役割は散乱波の位相を $\pi/2$ ずらし、入射波（0次回折光）の位相を0または $\pi$ ずらすことである。こうして入射波と散乱波がお互いの位相を $\pi/2$ ずらして干渉するためCTFが正弦関数（ $\sin(\gamma(k))$ ）から余弦関数（ $\cos(\gamma(k))$ ）に変換されるのである。位相板自体は適当な厚さの様な非晶質膜を用いて比較的簡単に作製できる。またその位相変化（ $\phi$ ）は物質の内部ポテンシャル（V）に対し〔数3〕のような簡単な依存性を示す。

【0016】

〔数3〕

$$\varphi = -\frac{\pi h}{\lambda} \frac{V}{U_0} \frac{1+2\alpha U_0}{1+\alpha U_0}, \quad \alpha = 0.9785 \times 10^{-6} \text{ V}^{-1}$$

【0017】〔数3〕で $h$ は薄膜の厚さ、 $U_0$ は使用する加速電圧、 $\lambda$ はその電圧での電子波の波長である。電圧の単位はボルトである。ポテンシャル $V$ は中性物質に関しては物質固有の量であり、加速電圧 $U_0$ が与えられれば、波長 $\lambda$ も定まるため位相シフト量は膜厚 $h$ に比例する。例えば300kV加速では、炭素膜に対し厚さ30nmで約 $\pi/2$ の位相シフトとなる。上記の引用文献ではいずれもこのような非晶質薄膜の位相シフト作用を位相板として用いている。

【0018】しかし薄膜位相板が電子線の通過する光軸上に入ると位相板が帯電し、帯電によるポテンシャルが内部ポテンシャルに加わるため種々の不都合を生じる。すなわち位相差電子顕微鏡実用化の最大の障害は、位相板自体の作製にあるのではなく、位相板に電子線が作り出す帯電由来のポテンシャルとその結果現れる異常コントラスト伝達関数（異常CTF）にある。異常CTFは $\sin(\gamma(k))$ や $\cos(\gamma(k))$ のレンズ由来のCTFに比べその形が不定型で対称性が極めて悪い場合が多く一般に制御が困難である。具体例を図7(b)に示した。電子ビームの通り道に不用意に電子透過性の物質を挿入すると、このように図7(a)のCTFと全く異なるCTFが、すなわち位相の変調がかかる。これは位相板の光学的厚さの非一様性と帯電の相乗効果によるものであり、場所に依存して電位が変わるためポテンシャル $V$ が変わり〔数3〕に従った付加的位相シフトが場所依存的に加わるためである。そのため通常法に比べ位相差電子顕微鏡では像が極度に歪むことが多かったのである。この障害を取り除くには、位相板の光学的厚さの一様性を確保しかつ帯電防止法を見出す必要があった。また帯電してもその影響を最小限になるよう制御する位相板使用法の工夫が求められていた。

【0019】上に述べた薄膜位相板の他に静電場を用いた位相板（7. H. Badde, L. Reimer, "Der Einfluss einer streuenden Phasenplatte auf das elektronenmikroskopische Bild", A. Naturforsch. 25a(1970)760-765. 8. W. Krakow, B. Siegel, "Phase Contrast in Electron Microscope images with an Electrostatic Phase Plate", Optik, 42(1975)245-268. 9. T. Matsumoto, A. Tonomura, "The phase constancy of electron waves traveling through Boersch's electrostatic phase plate", Ultramicroscopy, 63(1996)5-10.) や、金コートした細線を用いた位相シフト法（10. P. Unwin, "Phase contrast and interference microscopy with the electron microscope" Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Ser. B. 261(1971)95-104.)が提案されているが、上記と同じ帯電問題を抱えている。

#### 【0020】

【課題を解決するための手段】本発明は以上の事情に鑑みてなされたものであり、薄膜位相板において帯電をできるだけ制御し、また帯電してもその影響を最小化することにより従来実用化されなかった位相差電子顕微鏡を実現し、電子顕微鏡像のコントラストを飛躍的に高めかつ従来法の欠点であった像の歪をとり除くことを目的としている。

【0021】そのために本発明は、入射及び散乱電子波の位相を一樣にずらすための電子顕微鏡対物鏡りに担持された位相差電子顕微鏡用薄膜位相板であって、非晶質炭素、非晶質金を含む伝導性の非晶質物質又は該伝導性の非晶物質の複合体の薄膜よりなることを特徴とし、前記対物鏡りの開口中心に直径が0.05 $\mu$ mから5 $\mu$ mの大きさで真円の微小な丸い電子線透過孔を有し、あるいは対物鏡りの開口中心に電子波の位相を $\pi$ 遅らせる直径が0.05 $\mu$ mから5 $\mu$ mの大きさで真円の非晶物質を堆積したことを特徴とするものである。

【0022】また、位相差電子顕微鏡としては、入射及び散乱電子波の位相を一樣にずらすための非晶質炭素、非晶質金を含む伝導性の非晶質物質又は該伝導性の非晶物質の複合体よりなる薄膜位相板を電子顕微鏡対物鏡りに担持したことを特徴とし、前記薄膜位相板は、前記対物鏡りの開口中心に直径が0.05 $\mu$ mから5 $\mu$ mの大きさで真円の電子線透過孔を有し、あるいは対物鏡りの開口中心に電子波の位相を $\pi$ 遅らせる直径が0.05 $\mu$ mから5 $\mu$ mの大きさで真円の非晶物質を堆積し、レンズ後焦点面またはその後方にくるように配置されることを特徴とするものである。中心孔や堆積物直径は理想的には無限小だが、電子線ビームのアライメントが困難のため、また後述するoff-plane実験法の便宜のため有限な大きさとなる。一般に加速電圧の大きなものは小さな孔（例えば400kVでは0.5 $\mu$ m）、加速電圧の小さなものは大きな孔（例えば100kVでは2 $\mu$ m）となる。

【0023】さらに、入射及び散乱電子波の位相を一樣にずらすための非晶質炭素、非晶質金を含む伝導性の非晶質物質又は該伝導性の非晶物質の複合体よりなる薄膜位相板を電子顕微鏡対物鏡りに担持した位相差電子顕微鏡の位相板帯電防止法であって、顕微鏡使用前に電子線を大量に照射することを特徴とし、必要に応じて前記対物鏡りを高温に保持する機能を持つことを特徴とするものである。

#### 【0024】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施の形態を図面を参照しつつ説明する。

【0025】まず、課題の技術的本質を見極める実験と解析について述べる。図8は位相板の帯電曲線を示す図であり、位相板中心からの距離の関数として位相板上の電子を示した。電位は異常CTFと正常CTFの差から

先の〔数 1〕を用いて求められる。

【0026】図 7 (a)、(b) の比較は帯電の効果を明確に示している。逆にこうした実験はどの程度位相板が帯電しているかを異常 CTF 像から定量的に計測する手段を提供している。端的に図 7 (b) が図 7 (a) と同じになればその位相板は帯電がなく電子波位相を一樣にシフトさせることになり、位相板として正しく働く。帯電効果の解析はまず正常 CTF と異常 CTF を比較し、変化を位相の異常シフト  $\Delta\gamma(k)$  の  $k$  依存性として表現する。次に位相の異常シフトは〔数 3〕を用いて帯電による電位（物質の内部ポテンシャルに付加する帯電由来の電位）の変化に変換される。次に  $k$  の値と位相板上の動径距離 ( $r$ ) との対応をつけることで現実の位相板上の電位変化の場所依存性を見積ることができる。こうした方法を種々の材料の非晶質薄膜に適用した結果をまとめたのが図 8 に示した帯電曲線である。この実験の場合、非晶質薄膜の帯電特性自体を調べるのが目的のため、膜厚は  $\pi/2$  位相シフトに調整せずまた中心孔もあいていない。

【0027】まず大きく 2 つの現象が見て取れる。第一に挿入直後の位相板は電子ビーム照射に対し大きな経時変化を示すことである。これは電子ビームの事前照射前と事前照射後 ( $1000$  電子/ $\text{\AA}^2$  の照射量で 30 分間照射) の変化を比べればわかる。この経時変化の最大の理由は空気中で付着したよごれが電子線エッチング効果で蒸発するためと思われる。付着したよごれの多くが油性の不良導体で静電的に負の帯電を起こしやすい。経時変化はこれを除くことを電子線ビーム自体で行う必要があることを示唆している。よごれを除去した後でも位相板は顕微鏡内でゆっくりよごれる。事前照射後 24 時間経た位相板の負の帯電は確かに事前照射直後に比べ大きい。

【0028】ところで充分事前照射しても位相板帯電は必ずしもゼロとならないことがわかった。そのことが非晶質の炭素膜、金膜、ベリリウム膜およびそれらの複合膜を用いた実験結果の帯電曲線に示されている。ベリリウム膜は正の大きな帯電を示し、一方炭素、金は小さな正負の帯電を示した。また複合膜は必ずしも組成材料の帯電特性の単純和にならないことも示されている。これらはビーム電子の位相板による捕捉に伴う動的帯電であると思われる。電子捕捉は 2 次電子による正孔と反射電子過程による直接電子捕捉の微妙なバランスの上に成り立っており、その理論的予測はまだ定量的になっていない。したがってこうした実験を積み重ね試行錯誤で動的帯電の少ない材料を探す他は無いと思われる。

【0029】炭素と金はほぼ同じ小さな動的帯電特性を示したが、金は電子散乱が大きく強度のロスが大きいので、軽元素である炭素が位相板として最適材料と言える。炭素膜の場合長い経験があり、厚さの制御、一様性の制御、不純物の制御が容易である。静的帯電特性は素

材の伝導性に関係しており、同じ炭素膜でもプラズマ重合膜による炭化水素膜は不良導体のため極めて大きい異常 CTF を示した。従って非晶質炭素膜作製の注意として炭化水素の不純物混入を避けなければならない。結論として一樣な膜厚の高純度炭素非晶質膜が位相板として最適となった。

【0030】次に微小に残る動的帯電特性の場所依存性について考察したい。図 8 に示す炭素や金の非晶質膜の帯電曲線の特徴は動径距離  $r$  ( $k$  と対応) が大きくなるにつれ 2 次曲線的に変化している。この帯電曲線は動的帯電特性を反映しているが、帯電量は反射電子過程、2 次電子過程、まわりの迷走電子の捕捉等々の過程の総合の結果と考えられ極めて複雑であり、そのモデル化は誰も成功していない。また、帯電薄膜に対し中性条件で成立する〔数 3〕は適用できないが、帯電量と位相シフト量の関係もまだ厳密に求められていない。したがって、現状では実験による最適物質の探索をとらざるを得ない。

【0031】次に、課題を解決するための手段を説明する。この発明は上記の課題を解決するもので、帯電しにくい材料として純度の高い非晶質炭素を採用し、厚さの 1 様な薄膜を蒸着法、スパッター法で作製、対物絞りに担持するものである。絞り開口部の中央には小さな孔を中心対称性を破らず真円に開ける。

【0032】こうして作製された位相差電子顕微鏡用位相板はそのまま電子顕微鏡に挿入しても最初は激しい帯電のため使用に耐えない。それは空気中で吸着した種々の不純物が電子ビームで静電的に帯電するためであり、これを除くため観察用の  $10 \sim 100$  倍強度の電子ビームで 10 分～30 分間位相板を事前照射する必要がある。こうして静電的帯電防止した位相板を位相差電子顕微鏡用として用いる。しかしそれでも先に説明したように電子ビームの一部が位相板に流れ込む動的帯電があり、これを除くための工夫がある。それは結局、非晶膜材料選択と電子ビームの当て方の工夫でゼロにするか、残ってもその効果をうまく利用するようにすればよい。帯電防止効果を長期的連続維持させるためには、対物絞りの高温保持も有効である。

【0033】次に、薄膜位相板の作製法について説明する。図 1 は本発明に係る位相差電子顕微鏡用薄膜位相板の実施の形態を説明するための図であり、1 は対物絞り、2 は非晶質薄膜、3 は中心孔を示す。

【0034】位相差顕微鏡用位相板は図 1 のように対物絞り 1 の上面（または下面）に担持して張られた非晶質薄膜 2 であり、中心に微小の孔 3 が開いている。孔 3 の大きさは目的により、 $0.05 \mu\text{m}$  から  $5 \mu\text{m}$  の大きさに作る。まず非晶質薄膜 2 についてはできるだけ帯電しにくい材料を選ぶ。静電的帯電を防ぐには伝導性非晶質膜 2 を使う必要がある。また動的帯電を防ぐには材料独自の電子衝突特性を吟味しなければならない。2 つの条

件をクリアーする材料、たとえば炭素を用いた非晶質膜はたとえば真空蒸着法、スパッター法、などで作製されるが、厚さの一様性、非晶質の一様性を高く保つ注意深い作製が要求される。

【0035】図1に示す中心孔3の作製は絞り中央に真円を開けるため収束イオンビーム装置を用いるのがよい。この方法で $0.05\mu\text{m}\sim 5\mu\text{m}$ の孔を開けるのは容易である。また中心孔3を開ける替りに中心部分に $0.05\mu\text{m}\sim 5\mu\text{m}$ の真円の堆積物を置き、0次光を $\pi$ ずらす方法も位相板として採用できる。

【0036】次に、薄膜位相板の操作使用法について説明する。図2は中心孔薄膜位相板の配置法を説明するための図であり、(a)は位相板が丁度レンズの後焦点面上にくるように配置したin-plane法、(b)は位相板がレンズの後焦点面の後方にくるように配置したoff-plane法を示す。図3はoff-plane法による非晶質炭素膜(物面に置く)の電子顕微鏡像を示す図であり、位相板は24nm非晶質炭素薄膜で位相シフトは約 $0.4\pi$ 、(a)は位相板中心孔の投影が表れた非晶質炭素膜の電子顕微鏡像と孔内、孔外の2つのコントラスト伝達関数の像、(b)は中心孔の真円度を示す収束イオンビーム顕微鏡像である。

【0037】中心孔薄膜位相板を対物レンズ後焦点面に対しどう配置するかで、図2に示すように2つの異なる方法がある。1つは位相板を後焦点面に置き、0次回折光全てを中心孔で通過させる場合(in-plane法、図2(a))。もう1つは位相板を後焦点面の後に離して置き、中心孔の投影像を像面に作る場合(off-plane法、図2(b))。off-plane法では0次光は位相板一後焦点面の距離に応じて位相板を異なる半径で横切ることになる。in-plane法では位相板帯電問題は軽減されるが、off-plane法では帯電問題が深刻であり、先に述べた位相板作製上の諸注意が特に必要となる。

【0038】位相差像が像面でどのように表れるかはin-plane法(図2(a))とoff-plane法(図2(b))の像特性を比較すればわかる。広い面積で一様な位相差像がとれる点でin-plane法がすぐれているが一般に小さな中心孔の0次光通過のアライメントが難しい。それに比べoff-plane法は位相差像部分は狭いがアライメント不要であり、かつ非位相差像、すなわち通常電頭像が同時に撮れるというメリットを持っている。

【0039】図3(a)にoff-plane法を用いて撮像した非晶質炭素膜の電子顕微鏡像を示した。位相板は24nm厚の非晶質炭素膜で $0.4\pi$ の位相シフトを与えた。中心孔は(ガリウム)収束イオンビーム装置で真円 $1\mu\text{m}$ を開けた。孔の真円度は図3(b)の収束イオンビーム顕微鏡像で確めた。図3(a)で示す中心の明るい部分が位相差像部分で外側が通常電頭像部分で

ある。それぞれの部分をフーリエ変換すればコントラスト伝達関数(CTF)が得られるが、予想通り中心孔内のCTFは強度CTF(cos型)を中心孔外のCTFは位相CTF(sin型)を示していた。なお中心孔外のCTFでは中心に2つの黒い小円を認めるが、これは中心孔由来の像であり、この部分の情報が通常電頭像に比べ失われる。いずれにせよoff-plane法が理論通り働くことが確かめられた。

【0040】次に位相差像の実験例を示す。図4は位相差電子顕微鏡像を示す図、(a)はグリッド上で負染色されたフェリチン分子の位相差像と通常電子顕微鏡像、(b)は異なる部分のグリッド上のフェリチン分子の位相差像と通常電子顕微鏡像であり、図5は複素電子顕微鏡像を示す図で、複素観測法(図4(a)や(b)に示す位相差像と通常電子顕微鏡像を複素的に組み合わせる)で複素画像再生したフェリチン分子の無収差位相差像と無収差強度像及び通常電子顕微鏡像の比較例である。

【0041】中心孔位相板を用いてウラン負染色した蛋白質、フェリチン(直径約12nm、分子量45万、中心部に直径6nmの酸化鉄含有)を撮像し、位相差電頭像と通常電頭像を比較した。位相板は24nm厚の非晶質炭素膜を用いた。

【0042】図4に300kV電頭に中心孔位相板を挿入し、off-plane法で撮ったフェリチンの位相差像と同一部分を通常法(位相板非挿入で撮像)で撮った電頭像を示した。同一グリッド上のフェリチン分子像2つの例が示されているが、いずれも位相差像が圧倒的に高いコントラストで表示されていることがわかる。同一部分の写真なので左右を見比べればその差は明白である。特に位相差像は黒化度に定量性があり、フェリチン中心の酸化鉄結晶部が最も黒く、蛋白質部分がウラン染色剤がぬけて(負染色)最も白くなっていることが明白である。これは最初に述べたようにほとんどの物質は画像情報として位相変化しかないことを反映している。電子顕微鏡は位相差顕微鏡が本来の姿なのである。

【0043】図4(a)や(b)の2枚一組(位相差像と通常電頭対応像)を組み合わせ、複素画像を作り、レンズのCTFを除くことができる。この方法は複素観測法もしくは複素信号検出法(永山國昭、特願平9-361439号「複素信号検出法、複素顕微鏡および複素回折装置」と呼ばれ位相差法の応用の1つだが、この方法を適用すると波動関数の強度と位相を分離して純粋に画像化できる。図5にフェリチン分子の複素観測による位相像(位相差像ではない)と強度像を示した。同一場所の通常電頭像も一緒に示したが、この結果は電子顕微鏡の像が本質的に位相情報のみを含んでいることを実証的に示している。強度像は位相像に比べコントラストが10分の1以下であり、強度に画像情報はほとんどないといってよい。通常電頭像は位相像に示すような画像情報の一部を先に述べたシェルツァーの方法(デフォーカ

ス)で強度像に変換しており、その像はコントラストが低く本質的に位相CTFの変調を受けた歪んだ像である。

【0044】2つの実験例(位相差顕微鏡像と複素顕微鏡像)の結果は本発明に従って作られた中心孔位相板が原理通りに正しく働くことを実証的に示している。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明に係る位相差電子顕微鏡用薄膜位相板の実施の形態を示す図である。

【図2】 中心孔薄膜位相板の配置法を説明するための図である。

【図3】 off-plane法による非晶質炭素膜

(物面に置く)の電子顕微鏡像である。

【図4】 位相差電子顕微鏡像である。

【図5】 複素電子顕微鏡像である。

【図6】 電子レンズ系のコントラスト伝達関数(CTF)を説明するための図である。

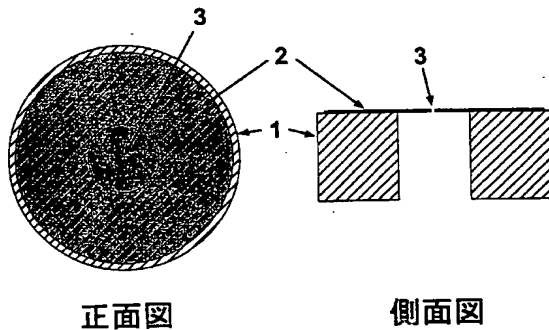
【図7】 コントラスト伝達関数(CTF)の位相板挿入に伴う帯電効果の影響を説明するための電子顕微鏡像である。

【図8】 位相板の帯電曲線を示す図である。

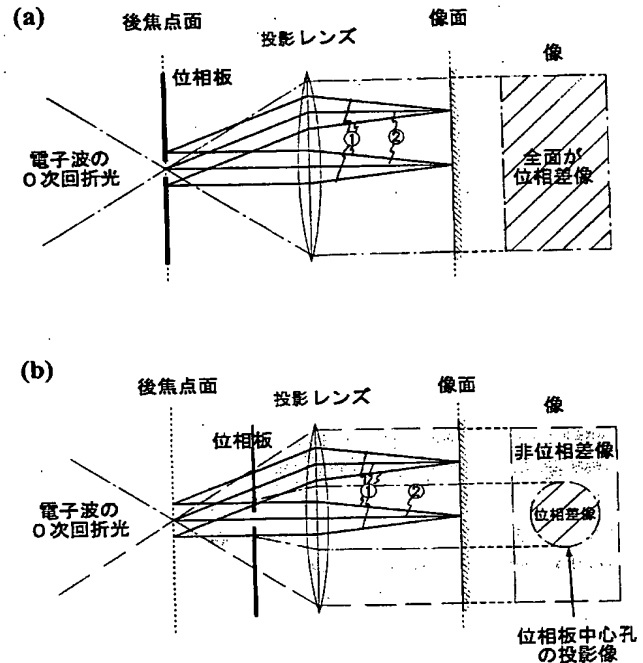
【符号の説明】

1…対物鏡、2…非晶質薄膜、3…中心孔

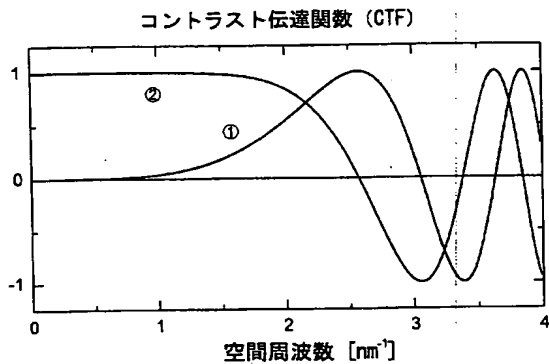
【図1】



【図2】

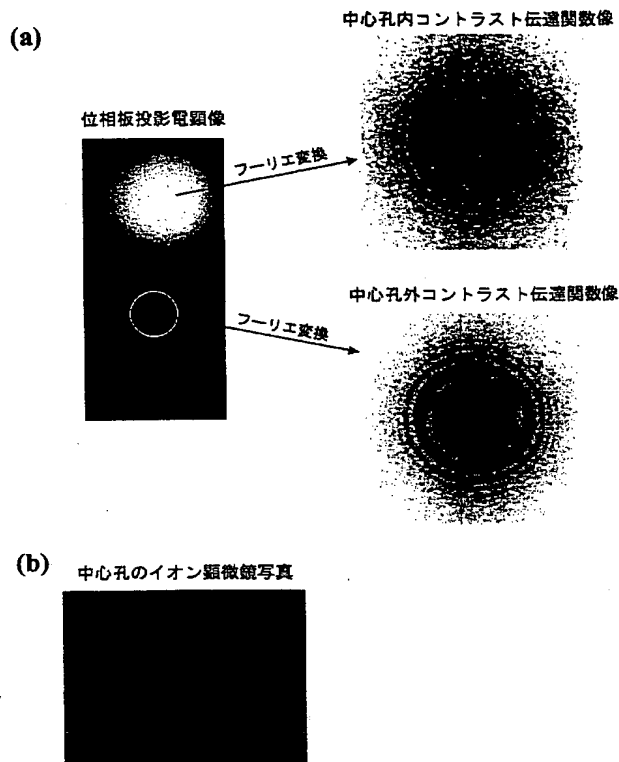


【図6】

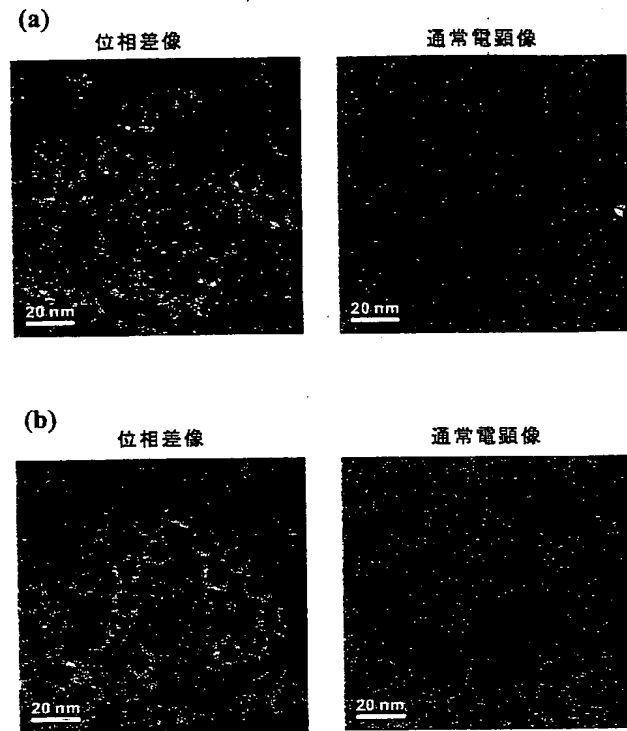


- ① — 通常の  
コントラスト伝達関数 (位相CTF)
- ② — 位相板挿入  
コントラスト伝達関数 (強度CTF)

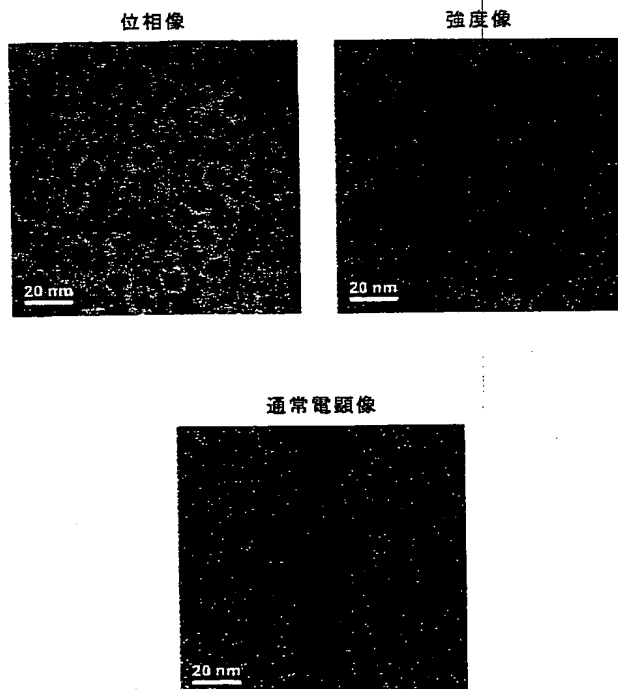
【図 3】



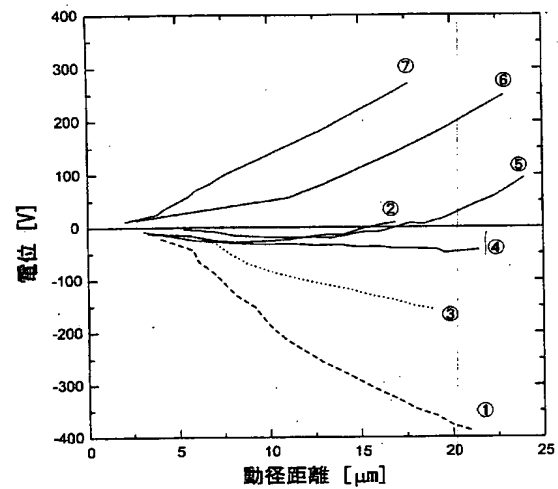
【図 4】



【図 5】



【図 8】



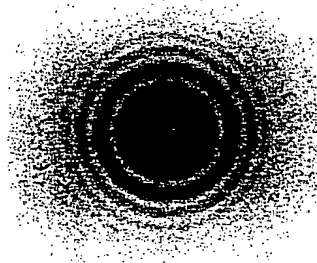
- ① ----- 事前照射前の炭素膜 (11 nm厚)
- ② ——— 事前照射直後の炭素膜 (11 nm厚)
- ③ ..... 事前照射24時間後の炭素膜 (11 nm厚)
- ④ ——— 事前照射直後の炭素-金複合膜 (炭素11 nm厚、金2 nm厚)
- ⑤ ——— 事前照射直後の金膜 (15 nm厚)
- ⑥ ——— 事前照射直後のベリリウム膜 (20 nm厚)
- ⑦ ——— 事前照射直後のベリリウム-金複合膜 (ベリリウム膜20 nm厚、金5 nm厚)



【図7】

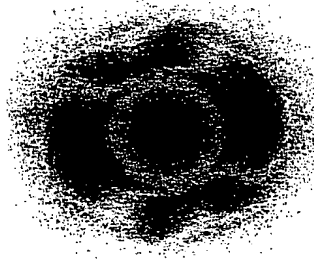
(a)

位相板非挿入時



(b)

位相板挿入時



## 【手続補正書】

【提出日】平成13年3月28日（2001. 3. 28）

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 電子顕微鏡の対物レンズを通過した電子の通路に配置される位相差電子顕微鏡用薄膜位相板であって、導電性の非晶質物質、または、複数の導電性の非晶質物質の複合体の薄膜よりなることを特徴とする位相差電子顕微鏡用薄膜位相板。

【請求項2】 前記薄膜の厚さを制御して電子波の位相を $\pi/2$ 遅らせるようにした請求項1記載の位相差電子顕微鏡用薄膜位相板。

【請求項3】 前記薄膜に微小な丸い電子線透過孔を有する請求項2記載の位相差電子顕微鏡用薄膜位相板。

【請求項4】 前記電子線透過孔は、直径が0.05 $\mu$ mから5 $\mu$ mの大きさの真円であることを特徴とする請求項3記載の位相差電子顕微鏡用薄膜位相板。

【請求項5】 前記薄膜に、電子波の位相を $\pi$ 遅らせるために真円の非晶質物質を堆積した請求項2記載の位相差電子顕微鏡用薄膜位相板。

【請求項6】 前記堆積した真円の非晶質物質は、直径が0.05 $\mu$ mから5 $\mu$ mの大きさであることを特徴とする請求項5記載の位相差電子顕微鏡用薄膜位相板。

【請求項7】 導電性の非晶質物質、または、複数の導電性の非晶質物質の複合体の薄膜よりなる薄膜位相板を、電子顕微鏡の対物レンズを通過した電子の通路に配置したことを特徴とする位相差電子顕微鏡。

【請求項8】 前記薄膜位相板は、電子線通路の中心に直径が0.05 $\mu$ mから5 $\mu$ mの大きさで真円の電子線透過孔を有し、レンズ後焦点面またはその後方にくるように配置されることを特徴とする請求項7記載の位相差電子顕微鏡。

【請求項9】 前記薄膜位相板は、電子線通路中心部を通過する電子波の位相を $\pi$ 遅らせるために、直径が0.05 $\mu$ mから5 $\mu$ mである非晶質物質を堆積し、レンズ後焦点面またはその後方にくるように配置されることを特徴とする請求項7記載の位相差電子顕微鏡。

【請求項10】 電子顕微鏡の対物レンズを通過した電

子の通路に配置される薄膜位相板であって、導電性の非晶質物質、または、複数の導電性の非晶質物質の複合体の薄膜よりなる薄膜位相板の帯電防止法であって、顕微鏡使用前に電子線を大量に照射することを特徴とする位相板帯電防止法。

【請求項 11】 前記位相板を高温に保持することを特徴とする請求項 10 記載の位相板帯電防止法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0021

【補正方法】変更

【補正内容】

【0021】そのために本発明は、電子顕微鏡の対物レンズを通過した電子の通路に配置される位相差電子顕微鏡用薄膜位相板であって、導電性の非晶質物質、または、複数の導電性の非晶質物質の複合体の薄膜よりなることを特徴とし、前記薄膜に直径が  $0.05\mu\text{m}$  から  $5\mu\text{m}$  の大きさで真円の微小な丸い電子線透過孔を有し、あるいは、前記薄膜に、電子波の位相を  $\pi$  遅らせるために直径が  $0.05\mu\text{m}$  から  $5\mu\text{m}$  の大きさで真円の非晶物質を堆積したことを特徴とするものである。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0022

【補正方法】変更

【補正内容】

【0022】また、位相差電子顕微鏡としては、導電性

の非晶質物質、または、複数の導電性の非晶質物質の複合体の薄膜よりなる薄膜位相板を、電子顕微鏡の対物レンズを通過した電子の通路に配置したことを特徴とし、前記薄膜位相板は、電子線通路の中心に直径が  $0.05\mu\text{m}$  から  $5\mu\text{m}$  の大きさで真円の電子線透過孔を有し、あるいは、電子線通路中心部を通過する電子波の位相を  $\pi$  遅らせるために、直径が  $0.05\mu\text{m}$  から  $5\mu\text{m}$  である非晶物質を堆積し、レンズ後焦点面またはその後方にぐるように配置されることを特徴とするものである。中心孔や堆積物直径は理想的には無限小だが、電子ビームのアライメントが困難なため、また後述する off-plane 実験法の便宜のため有限な大きさとなる。一般に加速電圧の大きなものは小さな孔（例えば  $400\text{kV}$  では  $0.5\mu\text{m}$ ）、加速電圧の小さなものは大きな孔（例えば  $100\text{kV}$  では  $2\mu\text{m}$ ）となる。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0023

【補正方法】変更

【補正内容】

【0023】さらに、電子顕微鏡の対物レンズを通過した電子の通路に配置される薄膜位相板であって、導電性の非晶質物質、または、複数の導電性の非晶質物質の複合体の薄膜よりなる薄膜位相板の帯電防止法であって、顕微鏡使用前に電子線を大量に照射することを特徴とし、必要に応じて前記位相板を高温に保持する機能を持つことを特徴とするものである。